

XENODIAGNÓSTICO NA DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA. I - SENSIBILIDADE DE *PANSTRONGYLUS MEGISTUS* E *TRIATOMA INFESTANS*

**José Borges-Pereira, Angela Cristina V. Junqueira, Laura Cristina Santos,
José Adail F. de Castro, Izeneide Barros de Araujo e José Rodrigues Coura**

*De janeiro de 1986 a fevereiro de 1994 foram aplicados 563 xenodiagnósticos (XD) em igual número de pacientes chagásicos crônicos de diferentes áreas do Brasil; 292 mulheres e 271 homens com idades entre 6 e 89 anos (média = 41,4 ± 14,7 anos). Em cada XD foram empregadas 40 ninfas no 4º estágio: 20 de *Panstrongylus megistus* (Pm) e 20 de *Triatoma infestans* (Ti) em jejum de pelo menos 14 dias. O exame de cada ninfa foi realizado 45 dias depois de aplicada no paciente, através da observação por microscopia óptica das fezes e/ou do triturado do tubo digestivo. Foram observados os seguintes resultados: a) XD positivos em 205 (36,4%) pacientes, sendo 85 (15,1%) devido exclusivamente às ninfas de Pm, 44 (7,8%) devido às de Ti e 76 (13,5%) devido a ambas Pm e Ti; b) positividade em 4,9% das ninfas de Pm e em 3,0% das ninfas de Ti. A análise destes resultados mostrou que as ninfas de Pm foram mais sensíveis do que as de Ti à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, aumentando significativamente a xenopositividade, independentemente da área de origem, sexo e faixa etária dos pacientes. Estes resultados indicam que, para aumentar o rendimento do XD na doença de Chagas crônica, este exame deve conter mais de uma espécie de triatomíneo com diferentes sensibilidades à infecção pelo *T. cruzi* e, no caso de uso de apenas uma espécie, as ninfas IV de Pm devem substituir as ninfas IV de Ti.*

Palavras-chaves: Doença de Chagas. Xenodiagnóstico. Sensibilidade. *Panstrongylus megistus*. *Triatoma infestans*.

A parasitemia na fase crônica da doença de Chagas é considerada baixa e os métodos freqüentemente empregados para evidenciá-la, como a hemocultura e o xenodiagnóstico, são considerados de baixa sensibilidade^{16, 18}. Estas características, associadas à necessidade de se conhecer a importância da parasitemia no processo evolutivo da patologia chagásica, têm conduzido a investigações no sentido de modificações na hemocultura e no xenodiagnóstico ou da aplicação de novas técnicas como a de PCR (Polymerase Chain Reaction) que resultem em maior rendimento na detecção das formas circulantes do *Trypanosoma cruzi*. Como resultados destas

investigações ressaltamos a elevada positividade da hemocultura obtida por Luz e cols²² e a alta positividade da técnica de PCR^{3, 9}, ambas em chagásicos crônicos. Por outro lado, são pouco satisfatórios os resultados obtidos com as modificações realizadas no xenodiagnóstico, provavelmente em consequência de dificuldades no controle das múltiplas variáveis associadas ao processo de interação entre amostras de *T. cruzi* e as diferentes espécies de triatomíneos^{10, 26, 27, 28}.

O xenodiagnóstico (XD) vem sendo aplicado no estudo da doença de Chagas há oito décadas. Neste período foram reveladas positivities entre 13 e 84% em seres humanos^{5, 8, 13, 14, 15, 23, 24, 25}. A análise destes resultados conduz à observação de que fatores ligados à população estudada, à biologia dos triatomíneos e à metodologia de aplicação e leitura do xenodiagnóstico podem influir na sua positividade. A variação da xenopositividade de acordo com a espécie de triatomíneo empregada tem sido evidenciada em diversos estudos^{1, 2, 4, 10, 13, 20}. Entretanto, é pequeno o número de estudos comparativos empregando simultaneamente as espécies

Departamento de Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Rio de Janeiro, RJ e Departamento de Parasitologia da Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI.

Apoio Financeiro: CNPq e FNS (Brasil).

Endereço para correspondência: Dr. José Borges Pereira. Departamento de Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz. Av. Brasil 4365, Manguinhos 21045-900 Rio de Janeiro, RJ.

Recebido para publicação em 26/07/95.

Panstrongylus megistus e *Triatoma infestans* em XD aplicados em pacientes chagásicos crônicos. Considerando a importância destas espécies como vetoras da infecção chagásica no Brasil e acreditando poder contribuir na seleção de triatomíneos que produzam melhor rendimento ao XD, realizamos o presente trabalho com o objetivo de avaliar as sensibilidades destas espécies à infecção por *T. cruzi*, de acordo com a área de origem, sexo e idade dos pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Pacientes. Foram estudados 563 pacientes chagásicos crônicos (PCC) sorologicamente positivos para anticorpos (IgG) anti *T. cruzi*, pelos testes de imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta e ELISA, 292 mulheres e 271 homens com idades entre 6 e 89 anos (média de 41, $4 \pm 14,7$ anos); 242 procedentes de Virgem da Lapa, Minas Gerais, 78 de Oeiras e Colônia, Piauí e 242 de outras áreas do Brasil (Tabela 1), encaminhados por diversas Unidades de Saúde do Rio de Janeiro, através do Hospital Evandro Chagas (HEC) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC).

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes chagásicos crônicos examinados segundo a área de origem

Área de origem	Número de pacientes
Virgem da Lapa-MG	242
Oeiras-Colônia-Pi	78
Outras áreas do Brasil	
Bahia	61
Minas Gerais	56
Rio de Janeiro	22
Alagoas	16
Paraíba	15
Pernambuco	15
São Paulo	10
Espírito Santo	9
Ceará	8
Goiás	7
Rio Grande do Sul	7
Mato Grosso	5
Mato Grosso do Sul	4
Paraná	4
Sergipe	2
Amazonas	1
Rio Grande do Norte	1
Total	563

Xenodiagnósticos. De janeiro de 1986 a fevereiro de 1994 foram aplicados 563 XD, um por paciente. Cada exame continha 40 ninfas

no 4º estágio: 20 de *P. megistus* (Pm) e 20 de *T. infestans* (Ti), em jejum de 14 a 21 dias, distribuídas 10 de cada espécie por caixa apropriada para este tipo de exame. De modo aleatório, 2 caixas foram aplicadas em cada antebraço do paciente por um tempo médio de 30 minutos. Em torno de 23 dias após este repasto as ninfas foram submetidas a um outro repasto de manutenção em galinhas. O exame de cada ninfa ocorreu em média 45 dias após a aplicação do XD no paciente, através da observação por microscopia óptica (aumento de 400 diâmetros) das fezes obtidas por compressão abdominal ou do tubo digestivo obtido por dissecação do inseto triturado com salina tamponada. Todo o material obtido (fezes ou tubo digestivo triturado) foi examinado em busca das formas evolutivas do *T. cruzi*. O achado de quaisquer das formas evolutivas em uma ou mais ninfas indicava a positividade do XD. As ninfas mortas, em geral secas, não foram examinadas. A aplicação dos XD nos pacientes oriundos do HEC ocorreu nas dependências do Departamento de Medicina Tropical (DMT) do IOC-FIOCRUZ e nos demais pacientes em suas respectivas áreas de origem. Coube ao insectário deste Departamento fornecer, manter e promover o exame de todas as ninfas empregadas neste trabalho.

Na análise dos dados foi utilizado o pacote estatístico contido no programa EPI-INFO instalado em microcomputador PC 386 do DMT-IOC-FIOCRUZ, considerando o nível de significância de 95%.

RESULTADOS

A xenopositividade total foi de 36,4% (205 pacientes). Foi significativamente maior entre os pacientes de Virgem da Lapa em comparação com a dos pacientes das outras áreas. Não houve diferença entre homens e mulheres. De acordo com o expresso na Tabela 2, a xenopositividade decresceu da primeira até a quinta década de vida, seguida de aumento na sexta década (50-59 anos).

Entre os 205 XD positivos, 85 (15,1%) foram devido exclusivamente às ninfas de Pm, 44 (7,8%) devido exclusivamente às ninfas de Ti e 76 (13,5%) devido a ambas as espécies Pm e Ti (Tabela 3). Considerando a participação de cada espécie na xenopositividade, Pm foi responsável por 161 (28,6%) XD positivos e Ti por 120 (21,3%), diferença esta estatisticamente significativa ($p < 0,05$), independentemente da área de origem, sexo e faixa etária dos pacientes.

Panstrongylus megistus e *Triatoma infestans* em XD aplicados em pacientes chagásicos crônicos. Considerando a importância destas espécies como vetoras da infecção chagásica no Brasil e acreditando poder contribuir na seleção de triatomíneos que produzam melhor rendimento ao XD, realizamos o presente trabalho com o objetivo de avaliar as sensibilidades destas espécies à infecção por *T. cruzi*, de acordo com a área de origem, sexo e idade dos pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Pacientes. Foram estudados 563 pacientes chagásicos crônicos (PCC) sorologicamente positivos para anticorpos (IgG) anti *T. cruzi*, pelos testes de imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta e ELISA, 292 mulheres e 271 homens com idades entre 6 e 89 anos (média de 41, $4 \pm 14,7$ anos); 242 procedentes de Virgem da Lapa, Minas Gerais, 78 de Oeiras e Colônia, Piauí e 242 de outras áreas do Brasil (Tabela 1), encaminhados por diversas Unidades de Saúde do Rio de Janeiro, através do Hospital Evandro Chagas (HEC) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC).

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes chagásicos crônicos examinados segundo a área de origem

Área de origem	Número de pacientes
Virgem da Lapa-MG	242
Oeiras-Colônia-Pi	78
Outras áreas do Brasil	
Bahia	61
Minas Gerais	56
Rio de Janeiro	22
Alagoas	16
Paraíba	15
Pernambuco	15
São Paulo	10
Espírito Santo	9
Ceará	8
Goiás	7
Rio Grande do Sul	7
Mato Grosso	5
Mato Grosso do Sul	4
Paraná	4
Sergipe	2
Amazonas	1
Rio Grande do Norte	1
Total	563

Xenodiagnósticos. De janeiro de 1986 a fevereiro de 1994 foram aplicados 563 XD, um por paciente. Cada exame continha 40 ninfas

no 4º estágio: 20 de *P. megistus* (Pm) e 20 de *T. infestans* (Ti), em jejum de 14 a 21 dias, distribuídas 10 de cada espécie por caixa apropriada para este tipo de exame. De modo aleatório, 2 caixas foram aplicadas em cada antebraço do paciente por um tempo médio de 30 minutos. Em torno de 23 dias após este repasto as ninfas foram submetidas a um outro repasto de manutenção em galinhas. O exame de cada ninfa ocorreu em média 45 dias após a aplicação do XD no paciente, através da observação por microscopia óptica (aumento de 400 diâmetros) das fezes obtidas por compressão abdominal ou do tubo digestivo obtido por dissecação do inseto triturado com salina tamponada. Todo o material obtido (fezes ou tubo digestivo triturado) foi examinado em busca das formas evolutivas do *T. cruzi*. O achado de quaisquer das formas evolutivas em uma ou mais ninfas indicava a positividade do XD. As ninfas mortas, em geral secas, não foram examinadas. A aplicação dos XD nos pacientes oriundos do HEC ocorreu nas dependências do Departamento de Medicina Tropical (DMT) do IOC-FIOCRUZ e nos demais pacientes em suas respectivas áreas de origem. Coube ao insectário deste Departamento fornecer, manter e promover o exame de todas as ninfas empregadas neste trabalho.

Na análise dos dados foi utilizado o pacote estatístico contido no programa EPI-INFO instalado em microcomputador PC 386 do DMT-IOC-FIOCRUZ, considerando o nível de significância de 95%.

RESULTADOS

A xenopositividade total foi de 36,4% (205 pacientes). Foi significativamente maior entre os pacientes de Virgem da Lapa em comparação com a dos pacientes das outras áreas. Não houve diferença entre homens e mulheres. De acordo com o expresso na Tabela 2, a xenopositividade decresceu da primeira até a quinta década de vida, seguida de aumento na sexta década (50-59 anos).

Entre os 205 XD positivos, 85 (15,1%) foram devido exclusivamente às ninfas de Pm, 44 (7,8%) devido exclusivamente às ninfas de Ti e 76 (13,5%) devido a ambas as espécies Pm e Ti (Tabela 3). Considerando a participação de cada espécie na xenopositividade, Pm foi responsável por 161 (28,6%) XD positivos e Ti por 120 (21,3%), diferença esta estatisticamente significativa ($p < 0,05$), independentemente da área de origem, sexo e faixa etária dos pacientes.

Tabela 2 - Xenopositividade (% XDp) segundo a área de origem, sexo e faixa etária dos pacientes chagásicos crônicos

Características dos pacientes	XDa	XDp	% XDp
Área de origem			
Virgem da Lapa, MG	242	111	45,9
Oeiras-Colônia, PI	78	29	37,2
Outras áreas do Brasil	243	65	26,7
Sexo			
feminino	292	106	36,3
masculino	271	99	36,5
Faixa etária			
06-09	8	5	62,5
10-19	29	16	55,2
20-29	75	32	42,7
30-39	146	51	35,0
40-49	150	48	32,0
50-59	90	39	43,3
≥ 60	65	14	21,5

XDa = xenodiagnósticos aplicados, XDp = xenodiagnósticos positivos

Tabela 3 - Distribuição dos xenodiagnósticos de acordo com os resultados dos exames das ninfas de *P. megistus* e de *T. infestans*.

Ninfas de (resultados dos exames)	Xenodiagnósticos	
	Total	%
<i>P. megistus</i> (-) <i>T. infestans</i> (-)	358	63,6
<i>P. megistus</i> (+) <i>T. infestans</i> (-)	85	15,1*
<i>P. megistus</i> (-) <i>T. infestans</i> (+)	44	7,8*
<i>P. megistus</i> (+) <i>T. infestans</i> (+)	76	13,5
Total	563	100,0

* $p < 0,05$ (qui-quadrado não corrigido).

A positividade das ninfas foi de 4,9% no grupo de Pm (489 ninfas positivas em 9.911 examinadas) e de 3,0% no grupo de Ti (292 ninfas positivas em 9.970 examinadas). Esta diferença foi significativa independentemente

Tabela 4 - Percentuais de infecções das ninfas (%Np) de *P. megistus* e de *T. infestans* em xenodiagnósticos aplicados em pacientes chagásicos crônicos segundo a área de origem, sexo e faixa etária.

Características dos pacientes	<i>P. megistus</i>			<i>T. infestans</i>		
	Ne	Np	% Np	Ne	Np	% Np
Área de origem						
Virgem da Lapa, MG	4.246	244	5,8	4.184	159	3,8
Oeiras-Colônia, PI	1.282	49	3,8	1.292	28	2,2
Outras áreas do Brasil	4.383	196	4,5	4.234	105	2,5
Sexo						
feminino	5.090	290	5,7	5.069	148	2,9
masculino	4.821	199	4,1	4.641	144	3,1
Faixa etária						
06-09	143	17	11,9	144	9	6,3
10-19	518	37	7,1	508	23	4,5
20-29	1.310	85	6,5	1.277	53	4,1
30-39	2.597	75	2,9	2.532	50	2,0
40-49	2.648	115	4,3	2.584	56	2,2
50-59	1.610	134	8,3	1.582	84	5,3
≥ 60	1.085	26	2,4	1.083	17	1,6

Ne = ninfas examinadas. Np = ninfas positivas.

da área de origem, sexo e faixa etária dos pacientes (Tabela 4).

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a positividade das ninfas de Pm (10,6%) nos XD positivos exclusivamente por Pm e a positividade das ninfas de Ti (9,3%) nos XD positivos exclusivamente por Ti (Tabela 5). Porém, nos XD positivos para ambas as espécies a positividade das ninfas de Pm (24,3%) foi significativamente maior do que a positividade das ninfas de Ti (16,2%) (Tabela 5).

Por ocasião da leitura do XD foram observadas 1.550 (13,8%) ninfas mortas entre as 11.260 aplicadas no grupo de Ti e 1.349 (12,0%) entre as 11.260 aplicadas no grupo de Pm. Esta diferença mostrou-se significativa (qui-quadrado de Mantel-Haenszel), independentemente da área de origem, sexo e faixa etária dos pacientes.

DISCUSSÃO

A xenopositividade de 36,4% encontrada neste trabalho, não associada ao sexo dos pacientes e o seu comportamento em relação a faixa etária estão de acordo com os resultados obtidos em trabalhos realizados especialmente em áreas endêmicas, nos quais os autores aplicaram um exame por paciente^{5,17,18}. A maior xenopositividade entre os pacientes com idades abaixo de 20 anos (Tabela 2) tem sido atribuída à maior parasitemia em função do menor tempo de infecção, enquanto nos pacientes maiores de 50 anos seria atribuída à queda da resposta imune^{5,8,13,19}, estas questões

Tabela 5 - Percentuais de infecções (%Np) das ninfas de *P. megistus* (Pm) e de *T. infestans* (Ti) segundo o resultado final dos xenodiagnósticos aplicados em pacientes chagásicos crônicos.

Xenodiagnósticos	<i>P. megistus</i>			<i>T. infestans</i>		
	Ne	Np	% Np	Ne	Np	% Np
Negativos	6.270	0	-	6.154	0	-
Positivos exclusivamente por Pm*	1.521	161	10,6	1.428	0	-
Positivos exclusivamente por Ti*	769	0	-	763	71	9,3
Positivos por Pm e Ti**	1.351	328	24,3	1.365	221	16,2
Total	9.911	489	4,9	9.710	292	3,0

Ne = ninfas examinadas, Np = ninfas positivas

* p < 0,05, ** p < 0,05 (qui-quadrado não corrigido).

ainda estão indefinidas. Para a maior xenopositividade entre os pacientes de Virgem da Lapa, indicando maior parasitemia na população chagásica crônica desta área em comparação com os chagásicos de Oeiras e Colônia no Piauí e de outras áreas do Brasil, não encontramos explicação a partir dos dados deste trabalho assim como em trabalhos de outros autores. Há especulações em torno da associação entre a maior xenopositividade em chagásicos de uma área endêmica e a presença de transmissão vetorial ativa. Entretanto, dados disponíveis sobre Virgem da Lapa indicando a interrupção da transmissão vetorial há pelo menos 13 anos⁷ e os resultados dos inquéritos entomológico e sorológico realizados em Oeiras e Colônia pelos autores em janeiro de 1994 (dados não publicados), indicando a possibilidade da transmissão vetorial ativa, contrariam estas especulações e conduzem a discussão para o campo das diferenças regionais na interação *T. cruzi*-homen.

A sensibilidade de diferentes espécies de triatomíneos à infecção por *T. cruzi* vem sendo estudada tanto em seres humanos como em animais de experimentação. Na literatura há poucos estudos comparativos avaliando as sensibilidades de *P. megistus* e de *T. infestans* em xenodiagnósticos na doença de Chagas crônica, apesar do importante papel destas espécies no processo de transmissão da infecção chagásica no Brasil. Por outro lado, há um número bem maior de trabalhos comparando as sensibilidades de *T. infestans* e de outras espécies, principalmente *Dipetalogaster maximus*^{2, 13, 20, 21}.

No presente trabalho, com pacientes chagásicos crônicos não selecionados, as ninfas de Pm apresentaram maior percentual de positividade do que as ninfas de Ti, de forma semelhante aos resultados encontrados por Szumlewicz, Muller e Moreira²⁹ e Borges-

Pereira, Junqueira e Coura⁶, também em pacientes chagásicos crônicos. No entanto, Bronfen e Alvarenga¹⁰ (exame de "pool" de 10 ninfas) e Bronfen e cols¹² (exame de cada ninfa) não encontraram diferença de sensibilidade entre as ninfas III de Pm e Ti, ao estudarem 59 pacientes chagásicos crônicos. Em trabalhos com animais de experimentação, Szumlewicz e Muller (empregando diferentes cepas)^{26, 27, 28} e Bronfen, Dias e Gouveia (empregando a cepa Y)¹¹ mostram maior sensibilidade das ninfas de Pm à infecção pelo *T. cruzi* em comparação com as ninfas de Ti.

A presença de XD positivos exclusivamente por Pm ou por Ti (Tabela 3) indica a necessidade de se empregar no XD mais de uma espécie de triatomíneo com diferentes sensibilidades à infecção pelo *T. cruzi*, assim como nos conduz a admitir como hipótese a circulação de subpopulações deste parasito com capacidade de desenvolvimento em Pm ou em Ti. Esta hipótese pode ser fundamentada em diferenças qualitativa e quantitativa da interação entre amostras de *T. cruzi* e triatomíneos reveladas em estudos experimentais^{11, 26, 27, 28}.

As positivities de Pm e de Ti foram significativamente maiores nos XD positivos para ambas as espécies do que nos XD positivos para um ou outra espécie (Tabela 5), indicando uma associação entre a parasitemia dos pacientes e a positividade das ninfas. Estes dados nos conduzem a seguinte especulação: estaria a alta parasitemia em um paciente chagásico crônico associada à circulação de subpopulações de *T. cruzi* e estas com potenciais de desenvolvimento nos diferentes triatomíneos?

Embora não seja objeto de avaliação neste trabalho, a quantidade de sangue ingerido pelas ninfas durante o repasto pode ser considerada como um fator capaz de modificar os seus índices de positividade. Resultados

preliminares de Zauza, Ferreira e Borges-Pereira³⁰, sobre xenodiagnósticos em pacientes chagásicos crônicos com ninfas IV de Pm ou de Ti, mostram o aumento da positividade de ambas as ninfas diretamente associado com a maior ingestão de sangue.

A mortalidade entre as ninfas de Ti foi maior do que a mortalidade entre as ninfas de Pm. Contudo, esta diferença não influenciou de maneira significativa os resultados finais sobre os percentuais de infecções das ninfas.

Em suma, acreditamos que a maior sensibilidade à infecção pelo *T. cruzi* revelada pelas ninfas de Pm em comparação com as ninfas de Ti, encontrada neste trabalho, possa contribuir com as investigações em torno da interação do *T. cruzi* com hospedeiros vertebrados e invertebrados, no caminho da padronização do xenodiagnóstico.

SUMMARY

From January 1986 to February 1994, 563 xenodiagnosis (XD) were applied in 563 chronic chagasic patients from different areas of Brazil; 292 were women and 271 were men between 6 and 89 years (average: $41,4 \pm 14,7$ years). To each XD 40 nymphs on the 4th stage were used: 20 from *Panstrongylus megistus* (Pm) and 20 from *Triatoma infestans* (Ti) in fast, during at least 14 days. The exam in each nymph was made 45 days after being applied on the patient, by observation in optical microscopy of the dregs and/or the grinded from the digestive tube. The results are: a) 205 (36.4%) positive XD, including 85 (15.1%) due only nymphs of Pm, 44 (7.8%) Ti and 76 (13.5%) Pm and Ti; b) positivity in 4,9 % of the nymphs from Pm and in 3,0 % of the Ti nymphs examined. These results' analysis showed that the Pm nymphs were more sensitive than Ti's ones to the infection by *Trypanosoma cruzi*, increasing considerably the xenopositivity, independently from birthplace, sex or age of the patients. These results point out that to increase the efficacy of XD in chronic Chagas' disease, the exam must have more than a species of triatomine with different sensibilities to the *T. cruzi* infection, and in case of using one species on XD, Pm must substitute Ti.

Key-words: Chagas' disease. Xenodiagnosis. Sensibility. *Panstrongylus megistus*. *Triatoma infestans*.

AGRADECIMENTOS

Ao Mozar José Coelho, Joaquim Mendes, José de Souza Nogueira, Nelmo Bruno,

Zulmira Rios, Julio Cesar Miguel, Valéria dos Santos Celano, Neide Carrara Fernandes, Rose Kelly Caldas de Aguiar e Maria José da Silva de Souza pela colaboração na montagem, aplicação, manutenção e leitura dos xenodiagnósticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarenga NJ, Bronfen E. Interação do *Trypanosoma cruzi* com diferentes vetores: uso para o xenodiagnóstico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 17:145-149, 1984.
2. Alvarenga NJ, Cuba CC, Barreto AC, Marsden PD, Macedo V. Valor comparativo entre *Dipetalogaster maximus* e *Triatoma infestans* no diagnóstico parasitológico de pacientes chagásicos crônicos com sorologia positiva. In: Resumos do XIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e II Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Brasília, DF, p 43, 1977.
3. Avila HA, Borges-Pereira J, Thiemann O, Paiva E, Degrave W, Morel CM, Simpson L. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *Journal Clinical Microbiology* 31:2421-2426, 1993.
4. Barreto AC, Marsden PD, Cuba Cuba CA, Alvarenga J. Estudo preliminar sobre o emprego de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Triatominae) na técnica do xenodiagnóstico em forma crônica da doença de Chagas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 20:183-189, 1978.
5. Borges-Pereira J, Coura JR. Morbidade da doença de Chagas. Estudo seccional em uma área endêmica, Virgem da Lapa, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 19:139-148, 1986.
6. Borges-Pereira J, Junqueira ACV, Coura JR. Xenodiagnóstico na doença de Chagas crônica. I- Aplicação simultânea de *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus*. In: Anais da IX Reunião Anual sobre Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas, Uberaba, MG, p 110, 1993.
7. Borges-Pereira J, Santos RCR, Lemos ERS, Cruz MLS, Subia CEA, Willcox HPF, Cunha RV. Infecção chagásica em menores de 13 anos no município de Virgem da Lapa, Minas Gerais. Estudo longitudinal no período de 6 anos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 22 (supl II):124, 1989.

8. Borges-Pereira J, Willcox HPF, Marcondes CB, Coura JR. Parasitemia em pacientes chagásicos crônicos avaliada pelo índice de triatomíneos infectados no xenodiagnóstico. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 22:39-44, 1989.
9. Breniere SF, Bosseno MF, Revollo S, Rivera MT, Carlier Y, Tibayrenc M. Direct identification of *Trypanosoma cruzi* natural clones in vectors and mammalian hosts by polymerase chain reaction amplification. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 46:335-341, 1992.
10. Bronfen E, Alvarenga NJ. O xenodiagnóstico e os critérios para avaliar o nível de parasitemia do paciente chagásico crônico. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 24:37-42, 1991.
11. Bronfen E, Dias JCP, Gouveia SC. Infecção experimental de *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus* pela cepa Y do *Trypanosoma cruzi* (Silva e Nussenzweig, 1953). Revista de Patologia Tropical 13:1-7, 1984.
12. Bronfen E, Rocha FSA, Machado GBN, Perillo MM, Romanha AJ, Chiari E. Isolamento de amostras de *Trypanosoma cruzi* por xenodiagnóstico e hemocultura de pacientes na fase crônica da doença de Chagas. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 84:237-240, 1989.
13. Castro CN. Influência da parasitemia no quadro clínico da doença de Chagas. Revista de Patologia Tropical 9:73-136, 1980.
14. Cerisola JA, Neves da Silva N, Prata A, Schenone H, Rohwedder R. Evaluación mediante xenodiagnóstico de la efectividade del nifurtimox en la infección chagásica crónica humana. Boletín Chileno de Parasitología 32:51-62, 1977.
15. Cerisola JA, Rohwedder RW, Prado CE. Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatomíneos. Boletín Chileno de Parasitología 26:57-58 1971.
16. Chiari E, Brenner Z. Contribuição ao diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na sua fase crônica. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 8:134-138, 1966.
17. Contreras MC, Schenone H, Rojas A. Positividad del xenodiagnóstico en personas con reacción de hemaglutinación indirecta para enfermedad de Chagas positiva, de acuerdo a los títulos de dicha reacción. Boletín Chileno de Parasitología 43:22-24, 1988.
18. Coura JR, Abreu LL, Dubois LEG, Correia-Lima F, Arruda Junior E, Willcox HPF, Anunziato N, Petana W. Morbidade da doença de Chagas. II- Estudos seccionais em quatro áreas de campo do Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 79:101-124, 1984.
19. Coura JR, Abreu LL, Willcox HPF, Petana W. Evaluation of the xenodiagnosis of chronic Chagas patients infected ten years or over in an area where transmission has been interrupted - Iguatama and Pains, West Minas Gerais State, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 86:395-398, 1991.
20. Cuba Cuba CA, Alvarenga NJ, Barreto AC, Marsden PD, Chiarini C. Nuevos estudios comparativos entre *Dipetalogaster maximus* y *Triatoma infestans* en el xenodiagnóstico de la infección chagásica crónica humana. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 20:145-151, 1978.
21. Cuba Cuba CA, Alvarenga NJ, Barreto AC, Marsden PD, Macedo V, Gama MP. *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera, Triatominae) for xenodiagnosis of patients with serologically detectable *Trypanosoma cruzi* infection. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 73:524-527, 1979.
22. Luz ZMP, Coutinho MG, Caçado JR, Krettli AU. Hemocultura: técnica sensível na detecção do *Trypanosoma cruzi* em pacientes chagásicos na fase crônica da doença de Chagas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 27:143-148, 1994.
23. Schenone H, Alfaro E, Reyes H, Taucher E. Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. Boletín Chileno de Parasitología 23:149-154, 1968.
24. Schenone H, Alfaro E, Rojas A. Bases y rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana. Boletín Chileno de Parasitología 29:24-26, 1974.
25. Schenone H, Contreras MC, Rojas A. Rendimiento del xenodiagnóstico, según el número de cajas utilizadas en 1.181 personas con infección chagásica crónica diagnosticada mediante la reacción de hemaglutinación indirecta. Boletín Chileno de Parasitología 46:58-61, 1991.
26. Szumlewicz AP, Muller CA. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease. I - Comparative xenodiagnosis with 9 triatomine species of animals with acute infections by *Trypanosoma cruzi*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 77:37-53, 1982.

27. Szumlewicz AP, Muller CA. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease. 2 - Attempts to upgrade the reliability and the efficacy of xenodiagnosis in chronic Chagas' disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 82:259-272, 1987.
28. Szumlewicz AP, Muller CA. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas' disease. 3 - On the interaction of vector species and parasite strain in the reaction of bugs to infection by *Trypanosoma cruzi*. *Revista de Saúde Pública* 22:390-400, 1988.
29. Szumlewicz AP, Muller CA, Moreira CJC. Comparative xenodiagnosis in humans with chronic Chagas' disease from endemic areas in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 24 (Supl I):19, 1991.
30. Zauza PL, Ferreira MC, Borges-Pereira J. Influência da quantidade de sangue ingerido pelos triatomíneos na xenopositividade na doença de Chagas crônica. *In: Resumos do XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia, Goiânia, GO, p 228, 1995.*